Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster
(Direktor: Prof. Dr. med. W. H. Hauss)

Untersuchungen über die Permeation von Fermenten Proteinen und Glykoproteiden aus Tumorzellen.

Auszug aus der
Inaugural-Dissertation
Zur Erlangung des Doktorgrades in der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster

Vorgelegt von
Fritz Sundermeyer
aus Bünde (Westf.)
1961

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. med. dent. E. Wannenmacher
Referent: Prof. Dr. med. C G. Schmidt
Correferent: Prof. Dr. med. W. H. Hauss
Tag der mündlichen Prüfung: 16. 12. 1961.

1.) Es wurde das Verhalten von Zellzahl, Hämatokrit und Zellvolumen, des Gesamteiweißes und der elektrophoretisch auftrennbaren Eiweißfraktionen, von vier verschiedenen Fermenten und drei verschiedenen Glykoproteiden im frisch gewonnenen und in der Warburg-Apparatur inkubierten Ascites bzw. Ascitesserum von Ratten mit Yoshida-Ascitessarkom untersucht.

2.) Nach Inkubation des Ascites in der Warburg-Apparatur ohne Endoxanzusatz lagen die durchschnittliche Zellzahl/mm^3 und der durchschnittliche Hämatokrit in jedem Falle und das durchschnittliche Volumen der einzelnen Asciteszelle in einigen Fällen niedriger als die entsprechenden Durchschnittswerte im frisch untersuchten Ascites. Während der Zusatz von Glukose keinen Einfluß auf die Veränderungen während der Inkubation zeigte, hatte der Zusatz von Endoxan eine deutliche Erhöhung des Hämatokrits und des Zellvolumens zur Folge. Die in jedem Falle eintretende Erniedrigung der Zellzahl wird auf durch starke Zellschädigungen bedingten Zelluntergang während der Inkubation, die Erhöhung von Hämatokrit und Zellvolumen bei Endoxanzusatz auf eine Permeabilitätssteigerung der Zellmembranen zurückgeführt.

3.) Während der Inkubation trat in jedem Falle eine Erhöhung des Gesamteiweißgehaltes und, abgesehen von der gamma-Glob.-Fraktion, auch der absoluten Menge der elektrophoretisch auftrennbaren Eiweißfraktionen des Ascitesserums ein. Am deutlichsten war die während der Inkubation erfolgte alpha$_2$- und beta-Glob.-Ausschüttung aus den Zellen in das Ascitesserum. Bei Glukose- und Endoxanzusatz war diese Ausschüttung meistens größer als ohne einen entsprechenden Zusatz. Die Erhöhung des Gesamteiweißgehaltes und der Menge elektrophoretisch auftrennbarer Eiweißfraktionen im Ascitesserum wird in Zusammenhang gebracht mit einer Freisetzung der Proteine aus den zugrunde gehenden Zellen bzw. aus den Zellen, deren Membranpermeabilität besonders durch die Glukose- oder Endoxaneinwirkung beträchtlich gesteigert wird. Eine Neusynthese von Eiweißkörpern in den den erheblichen Schädigungen ausgesetzten Asciteszellen wird für wenig wahrscheinlich gehalten.

4.) Bei den Fermenten traten während der Inkubation teilweise sehr erhebliche Veränderungen gegenüber den Ausgangswerten ein, wobei, außer in zwei Fällen, bei der MDH (Milchsäuredehydrogenase), SGOT (Glutaminsäure-Oxalessigsäuretransaminase) und der GSDH (Glutaminsäuredehydrogenase) jedesmal eine Steigerung

der Aktivität zu verzeichnen war, während sich bei der Aldolase stets eine Aktivitätsverminderung während der Inkubation einstellte. Es konnten kontinuierliche Aktivitätssteigerungen bzw. -verminderungen, angefangen vom Ausgangswert über 3-stündige Inkubation nach 6-stündiger Inkubation nachgewiesen werden. Nach 6-stündiger Inkubation lagen die Aktivitäten der MDH, SGOT und der GSDH mit Glukose jeweils höher als ohne Glukosezusatz, und Endoxan verursachte eine noch darüber hinausgehende Ferment-Aktivitätssteigerung im Ascitesserum, sodaß bei gleichzeitigem Endoxan- und Glukosezusatz die höchsten Werte zu beobachten waren. Diese deutlichen Veränderungen bei Zusatz des Cytostaticums Endoxan sind wahrscheinlich bedingt sowohl durch Zerstörung bzw. Permeabilitätssteigerung der Zellmembranen, sodaß es zu einem rein passiven Austritt der Fermente aus den Zellen kommt, als auch durch Zerstörung sonstiger Zellstrukturen, z. B. der Mitochondrien, wofür besonders die starken GSDH-Aktivitätssteigerungen sprechen. Auch die gesamte Stoffwechselökonomie der Tumorzellen wird dabei wohl ungünstig beeinflußt. Einer Normalisierung, d. h. Senkung der Enzymaktivitäten bei klinisch nachweisbarem Therapieerfolg mit Cytostatica entsprechender Befund konnte also nicht erhoben werden. Die durch den Glukosezusatz verursachten Aktivitätssteigerungen werden auf das dabei vorliegende vermehrte Substratangebot für die glykolytischen Fermente zurückgeführt, welches wahrscheinlich eine verstärkte Neusynthese dieser Enzyme in den Asciteszellen hervorruft. Eine direkte Zellschädigung durch Glukose wäre andererseits schwer vorstellbar.

Die auch von WARBURG und Mitarbeiter während der Inkubation stets beobachtete Aktivitätsverminderung der Aldolase im Ascitesserum hängt vielleicht zusammen mit einem aktiven oder passiven Rückstrom dieses Fermentes aus dem Ascitesserum in die Tumorzellen. Um diese Annahme jedoch beweisen zu können, müßte die Aldolase-Aktivität in den Asciteszellen bestimmt werden.

5.) Der Neuraminsäuregehalt des Ascitesserums liegt bei Glukosezusatz durchschnittlich jeweils höher als bei Inkubation ohne Glukose. Durch Einwirkung von Endoxan werden die Kontrollwerte noch über den Ausgangswert hinaus gesenkt. Bei den proteingebundenen Hexosen dagegen sind ohne Glukosezusatz höhere Durchschnittswerte zu verzeichnen als bei Inkubation mit Glukose. Das Verhalten bei Endoxaneinwirkung ist hier uneinheitlich ebenso wie alle Veränderungen, die sich im Gehalt des Ascitesserums an Glukosamin ereignen. Insgesamt sind die Befunde der Bestimmung der proteingebundenen Kohlenhydrate nur schwer zu deuten.

Es konnte jedoch auch hier, entsprechend mehreren Angaben in der Literatur gezeigt werden, daß die Veränderungen im Glykoproteidgehalt des Ascitesserums in einer gewissen Parallele zu denen der Verteilung der elektrophoretisch auftrennbaren Eiweißfraktionen, und zwar besonders der alpha- und beta-Glob.-Fraktionen, stehen. Ähnlich den Ergebnissen von Böhm und Mitarb. lag auch in den vorliegenden Untersuchungen der Neuraminsäuregehalt im Exsudat, nämlich im Yoshida-Ascitesserum, deutlich niedriger als der von Böhm im Blutserum von Ratten ermittelte, jedoch höher als der in Transsudaten, z. B. im Ascites bei Leberzirrhose, Herzinsuffizienz und Nephrose von demselben Autor gemessene durchschnittliche Neuraminsäuregehalt.